



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**FORMULACIONES MICROBICIDAS PARA
LA PREVENCIÓN DE LA TRANSMISIÓN
SEXUAL DEL VIH (SIDA)**

Autor: Notario Pérez, Fernando

D.N.I.: 47296946-E

Tutor: Ruiz Caro, Roberto

Convocatoria: Junio 2015

RESUMEN

El VIH es uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, especialmente en los países más desfavorecidos. Hay que destacar la situación en que se encuentran las mujeres, pues en muchos países es habitual la violencia sexual contra jóvenes y niñas y las medidas de prevención de la transmisión no están bajo su control. Cada año 380.000 mujeres de entre 10 y 24 años contraen la infección por VIH, y el 80% de ellas viven en el África subsahariana. Por este motivo, es necesario disponer de métodos de prevención controlados por las mujeres, como los microbicidas.

En este trabajo se ha recopilado y analizado la información más relevante de la que se dispone actualmente con respecto a las formulaciones microbicidas para prevenir la transmisión sexual del VIH.

Con los resultados disponibles hasta la fecha, se puede afirmar que los surfactantes han sido rápidamente descartados como microbicidas, por su falta de eficacia protectora. Entre todos los inhibidores de la entrada del virus estudiados, los más prometedores son aquellos que incluyen un fármaco antiviral, como el Maraviroc, o anticuerpos monoclonales inhibidores de la glicoproteína 120. Los microbicidas que incluyen inhibidores de la transcriptasa inversa, como el Tenofovir, son los que mejor eficacia protectora han mostrado hasta la fecha. Los probióticos han surgido recientemente como potenciales microbicidas, pero aún se encuentran en fases tempranas de desarrollo.

Se puede concluir que los microbicidas son una herramienta prometedora para prevenir la transmisión sexual del VIH, pero aún queda un largo camino por recorrer pues se trata de un campo con amplio margen de mejora.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Las enfermedades de transmisión sexual (ETS) son una importante causa de enfermedad, infertilidad, discapacidad y muerte a nivel mundial, con consecuencias médicas y psicológicas graves para millones de hombres, mujeres y niños. Es por ello que la OMS/Europa ayuda a los Estados Miembros en la promoción y desarrollo de políticas y prácticas basadas en los derechos humanos para el control y la prevención de las ETS.

Cabe destacar que, según la Organización Mundial de la Salud, las ETS y sus complicaciones se encuentran entre las cinco principales enfermedades de los países en desarrollo, lo que obliga a los pacientes a buscar asistencia sanitaria [1].

El VIH/SIDA es uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, especialmente en los países menos desarrollados. Se trata de una enfermedad crónica causada por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), un virus que infecta a las células del sistema inmunitario, alterando o anulando su función, y produciendo un deterioro progresivo del sistema inmunitario hasta que el individuo alcanza el estado de “inmunodeficiencia”. La primoinfección por el VIH es sintomática en más de la mitad de los casos, pero puede pasar desapercibida ya que sus síntomas son los de una virosis común (fiebre, adenopatías, mialgias, exantema, sudoración nocturna y artralgias). Existen dos serotipos del VIH (VIH-1 y VIH-2), cuya principal diferencia a nivel funcional radica en que en la infección por VIH-2 el número de virus circulantes en el organismo es menor, por lo que es de evolución más lenta y su periodo de incubación es más largo. Sin embargo, finalmente ambos serotipos acaban causando el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) [2].

El SIDA es la etapa más avanzada de la infección por VIH, en la que el sistema inmunológico no responde de forma eficaz y se desarrollan enfermedades debido a la pérdida de capacidad de defensa del organismo. Clínicamente, se considera que un paciente sufre SIDA cuando el recuento de linfocitos T CD4+ es menor de 200/mm³ o cuando existe una inmunodeficiencia evidenciada por la presencia de una enfermedad grave que amenaza a la vida del paciente.

En los tratamientos antirretrovirales se utilizan fármacos que han demostrado retrasar la progresión clínica, reducir los costes y aumentar la supervivencia del paciente infectado. El objetivo del tratamiento antirretroviral (TAR) es reducir la carga vírica a niveles indetectables, para recobrar la inmunocompetencia y evitar el contagio. Los fármacos antirretrovirales se pueden clasificar en función del momento del ciclo viral en que ejercen su acción. De este modo encontramos:

- Inhibidores de la entrada o de la fusión (IE) (Enfuvirtide)
- Inhibidores de la transcriptasa inversa, que a su vez pueden ser:
 - o Análogos de nucleótidos/nucleósidos (ITIAN) → Tenofovir, Adefovir, Zidovudina, Didanosina, Estavudina, Emtricitabina, Abacavir o Lamivudina)

- No análogos de nucleótidos/nucleósidos (ITINAN) → Efavirenz, Rilpivirina, Nevirapina o Etravirina)
- Inhibidores de la proteasa (IP) → Ritonavir o Darunavir
- Inhibidores de la integrasa (II) → Dolutegravir o Raltegravir

Actualmente, el tratamiento de elección en la infección por VIH consiste en una combinación de tres fármacos que incluye dos ITIAN asociados a un ITINAN, un IP o un II. Resulta crucial decidir el momento en que cada persona debe iniciar el tratamiento, pues una vez iniciado el TAR debe ser mantenido en el tiempo.

En el caso de las infecciones agudas, debe considerarse iniciar el tratamiento en los casos en que exista un alto riesgo de transmisión. Además, se recomienda iniciar TAR en los pacientes con infección aguda sintomática cuando exista afectación neurológica (meningoencefalitis, síndrome de Guillain-Barré...) o de cualquier otro órgano o sistema (hepatitis, miopericarditis, trombocitopenia...), cuando la sintomatología sea prolongada (más de siete días de duración), cuando se acompañe de eventos clínicos relacionados con la inmunodepresión o cuando se acompañe de una inmunodepresión celular avanzada (linfocitos T CD4+ < 350/μL). En la actualidad, el inicio del TAR durante la infección aguda aún es controvertido, ya que se desconoce su potencial beneficio a largo plazo.

Los ITINAN y los inhibidores de la fusión están contraindicados para el VIH-2, pues presenta resistencia intrínseca a estos fármacos. Sin embargo, si es sensible a los ITIAN, pero aun así, su barrera genética es más baja que la del VIH-1. Aunque no se dispone de ensayos clínicos aleatorizados que permitan identificar regímenes de uso preferencial en la infección por VIH-2, se recomienda como TAR preferente la combinación de dos ITIAN y un IP [3].

Según las últimas estimaciones, 35 millones de personas viven con VIH, 2,1 millones de personas al año contraen la infección y 1,5 millones de personas fallecen cada año por causas relacionadas con el VIH.

Sin embargo, a pesar de la gran magnitud de la epidemia, los últimos datos recogidos por el Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) indican que, a lo largo de la última década, se han logrado avances significativos, pues el número de casos de nuevas infecciones, así como el índice de mortalidad, continúa disminuyendo en todo el mundo. Dicho descenso es mucho más acentuado en el caso de

los niños, pues en la última década la cantidad de niños que contrajeron la infección por el VIH cayó en un 52%, pasando de 550.000 en 2001 a 260.000 en 2012 [4,5].

La consecución del objetivo de acabar con la epidemia del SIDA está cada vez más cerca, a través de la eliminación de la transmisión del VIH y las muertes relacionadas con el SIDA. No obstante, el estigma y la discriminación, la violencia contra las mujeres y las niñas, y la existencia de leyes injustas continúa dificultando los esfuerzos para lograr los objetivos mundiales. Con todo, si se superan dichos retos, el número de personas que reciben tratamiento sigue aumentando a un buen ritmo y si la eficacia de los esfuerzos para la prevención del VIH continúa mejorando, el mundo podrá alcanzar su objetivo de acabar con la epidemia de SIDA en un futuro no muy lejano.

Como muestra de los pasos a seguir para lograr acabar con el SIDA, tenemos los objetivos establecidos por la Organización de las Naciones Unidas [6]:

1. Reducir la transmisión sexual del VIH en un 50 % para el año 2015
2. Reducir la transmisión del VIH entre las personas que se inyectan drogas en un 50 % para el año 2015
3. Eliminar las infecciones por el VIH en los niños y reducir la mortalidad materna durante el embarazo, el parto o el puerperio
4. Proporcionar tratamiento antirretroviral que puede salvar vidas a 15 millones de personas que viven con el VIH para el año 2015
5. Reducir la mortalidad por tuberculosis en las personas que viven con el VIH en un 50 % para el año 2015
6. Subsana el déficit mundial de recursos para la lucha contra el SIDA
7. Eliminar las desigualdades, el maltrato y la violencia de género y aumentar la capacidad de las mujeres y las adolescentes para protegerse del VIH
8. Eliminar el estigma, la discriminación, y las leyes y prácticas coercitivas en relación con el VIH
9. Eliminar restricciones relacionadas con el VIH en la entrada, la estancia y la residencia de personas infectadas
10. Fortalecer la integración del VIH

Uno de estos objetivos, concretamente el séptimo, nos lleva a analizar el estado en que se encuentran las mujeres actualmente, especialmente en los países más desfavorecidos, en la protección frente al VIH, ya que se ha observado que la probabilidad de

transmisión de ETS de hombre a mujer es alarmantemente alta. Esto es debido a que los métodos actuales de prevención de ETS, como la abstinencia, los preservativos y la monogamia, son con frecuencia ineficaces y se encuentran fuera del control de las mujeres, pues muchos hombres se oponen al uso de preservativos y las mujeres no tienen autoridad para pedir a sus parejas que los usen. Por ello, en la actualidad, más del 50% de las nuevas infecciones por el VIH se dan en mujeres.

El comportamiento sexual es más propenso a la transmisión de ETS en algunos países, y existen indicios de que las prácticas sexuales de riesgo han aumentado en varias naciones. Los últimos datos recogidos indican un aumento significativo de la poligamia en algunos países (Burkina Faso, Congo, Costa de Marfil, Etiopía, Gabón, Guyana, Ruanda, Sudáfrica, Uganda, Tanzania y Zimbabue), así como un descenso en el uso de preservativos (Costa de Marfil, Níger, Senegal y Uganda).

Entre los principales obstáculos frente a los esfuerzos realizados para prevenir la transmisión del VIH se encuentran la falta de acceso a servicios de educación sexual y la violencia sexual contra jóvenes y niñas. Cada año, se producen alrededor de 380.000 nuevas infecciones por VIH en mujeres de 10 a 24 años, lo que supone que 50 mujeres jóvenes contraen la infección por VIH cada hora. Además, el 80% de las mujeres de 10 a 24 años con VIH viven en el África subsahariana [7].

Por esta razón, es necesario disponer de métodos de prevención de la transmisión controlados por las mujeres, como es el caso de los microbicidas y de los preservativos femeninos.

Los microbicidas están emergiendo actualmente como una herramienta prometedora para proteger a las mujeres de la adquisición de este tipo de infecciones. El uso de los microbicidas sería controlado por las mujeres, que podrían aplicárselos antes de la relación sexual y no necesitarían que el hombre coopere. Un microbicida vaginal se puede definir como cualquier agente incluido en una formulación tópica destinada a prevenir la transmisión de patógenos sexuales, ya sea por la inactivación de mecanismos en el patógeno, mediante la formación de una barrera física entre las células y los patógenos, o mediante la mejora de los mecanismos de protección naturales del cuello uterino y vagina.

Se pueden clasificar los microbicidas según su mecanismo de acción en microbicidas basados en antirretrovirales, que incluyen inhibidores de la entrada o de enzimas virales,

y microbicidas no basados en antirretrovirales, como pueden ser los agentes surfactantes o los probióticos.

Desafortunadamente, muchas de las formulaciones microbicidas vaginales pueden dejar de producir una respuesta protectora, no sólo debido a una falta de eficacia, sino también debido a una formulación inadecuada. Algunas de las formas de dosificación vaginales más utilizadas incluyen cremas, geles, comprimidos, films, anillos y duchas vaginales, presentando cada una de estas formulaciones ventajas y limitaciones específicas.

Por lo tanto, si se consiguiera desarrollar un microbicida vaginal eficaz, seguro, de fácil fabricación, económico, estable en diferentes condiciones ambientales, y de cómoda administración para la mujer, se lograría un avance muy importante para frenar la transmisión del VIH.

OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es recopilar y analizar la información más relevante de la que disponemos actualmente con respecto a las formulaciones microbicidas para prevenir la transmisión sexual del VIH, para así dar a conocer a la comunidad científica el estado actual en que se encuentra el desarrollo de estas formulaciones. Además, se pretende justificar la necesidad actual de disponer de métodos de prevención de la transmisión del VIH eficaces y que puedan ser controlados por las mujeres, con el fin de detener la transmisión sexual del virus como un primer paso para acabar con la epidemia del VIH/SIDA.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo, se realizó una búsqueda bibliográfica utilizando los principales motores de búsqueda de bases de datos de citas y resúmenes de artículos de investigación biomédica.

La metodología llevada a cabo por los estudios que se recogen en este trabajo es la propia del desarrollo de cualquier medicamento. Cuando se trata de formulaciones que incluyen un principio activo, es necesario aportar datos que confirmen su eficacia antiviral *in vitro* frente al VIH. A continuación, todos los microbicidas deberán

demostrar a través de ensayos en animales que presentan un perfil de seguridad favorable y actividad antiviral en animales. Para la experimentación en animales se utilizan macacos principalmente, y se evalúa la eficacia de las formulaciones frente a cepas simio-quiméricas del virus (SHIV), aunque existen otras variantes, como por ejemplo la utilización de cepas de ratón humanizado. Una vez superados con éxito los ensayos en animales, se comienza con los ensayos clínicos, en los que es necesario no solo aportar datos que atesoren la eficacia de la formulación, sino también su seguridad, la falta de incidencia de lesiones genitales y efectos secundarios, que no sean tóxicos para la mucosa vaginal y que no afecten a la microbiota habitual de la vagina.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actualmente existen diversos ensayos clínicos con microbicidas que tienen potencial para ser eficaces en la prevención de la transmisión sexual del VIH. Para poder compararlos mejor, se clasifican según su mecanismo de acción en surfactantes, inhibidores de la entrada, inhibidores de enzimas virales y probióticos.

Surfactantes

Los surfactantes son sustancias que actuarían como virucidas al reducir la tensión superficial en la superficie del patógeno y provocar la muerte del microorganismo antes de que éste entre en contacto con la mucosa vaginal.

El primer agente surfactante estudiado como microbicida fue el Nonoxynol-9, un producto ampliamente utilizado como espermicida. Sin embargo, los ensayos no solo evidenciaron que el Nonoxynol-9 no es eficaz para la prevención de la transmisión del VIH, sino que además aumentan la incidencia de lesiones genitales, tales como úlceras vaginales, lo cual hace que su uso conlleve más riesgo de adquirir ETS [8].

Otro surfactante estudiado es SAVVY gel[®]. Se trata de un gel que incluye C31G al 1%, una mezcla de alquil dimetil glicina y óxido de alquil dimetil amina, dos componentes que inhiben la adhesión microbiana. Este surfactante tampoco demostró eficacia en la protección frente al VIH y fue descartado como microbicida. Es más, la incidencia de infecciones fue mayor en las pacientes tratadas con SAVVY gel[®] que en las tratadas con placebo, aunque las diferencias tampoco nos permiten concluir que haya un efecto perjudicial en el tratamiento con SAVVY gel[®] [9].

Inhibidores de la entrada

En este grupo incluimos distintas formulaciones con diversos mecanismos de acción, pero todas ellas tienen en común que tratan de impedir que el patógeno entre en las células.

Carraguard[®] es un gel en investigación cuyo principio activo es el carragenano, un polisacárido lineal sulfatado que se extrae de algas marinas y que ha sido ampliamente utilizado en la industria farmacéutica por sus propiedades gelificantes, espesantes y conservantes. El microbicida se formuló en forma de gel para ser aplicado sobre la mucosa vaginal en la hora previa a las relaciones sexuales. Los estudios han mostrado que su uso es seguro para las mujeres, y los efectos secundarios asociados fueron leves y poco frecuentes. Sin embargo, los ensayos de fase II no han logrado demostrar su eficacia en la prevención de la transmisión del VIH. Actualmente, se está valorando utilizar el gel como un vehículo en el que se incluyan fármacos antirretrovirales [10].

Otro gel ensayado para evitar la entrada del patógeno es el PRO 2000[®], cuyo principio activo es un polímero sintético, el sulfonato de naftaleno. En este caso se trata de un polianión con cargas negativas, teniendo la habilidad de interactuar con cargas positivas de la glicoproteína gp120 del virus y bloquear su entrada en las células. Ha demostrado actividad antiviral contra el VIH-1 *in vitro* y en animales, y un perfil de seguridad favorable. Sin embargo, a pesar de que los ensayos en mujeres han demostrado alta adherencia y seguridad, no han demostrado ser efectivos en la prevención de la transmisión sexual del VIH [11, 12].

Actualmente se encuentra en estudio otro polianión, VivaGel[®], que también ha mostrado actividad antiviral frente a VIH en modelos animales, así como ser bien tolerado en animales y en humanos. Su principio activo es SPL7013, un dendrímero creado expresamente mediante nanotecnología para mostrar actividad antiviral frente al VIH [13].

Otro gel diseñado para inhibir la entrada de patógenos es BufferGel[®]. Se trata de un acidificante, una solución tampón capaz de mantener la acidez normal de la vagina en presencia del semen eyaculado. Este microbicida se basa en algunos estudios que proponen que un medio ácido podría inhibir al VIH, sin embargo los estudios con BufferGel[®] han demostrado su seguridad, pero no alteración alguna en la transmisión del VIH [14].

También existen formulaciones microbicidas que incluyen anticuerpos monoclonales neutralizantes de la glicoproteína gp120 del virus. Se trata de anticuerpos que reconocen la gp120 uniéndose a ella impidiendo la unión del virus a los linfocitos T CD4+. Algunos ejemplos son la vitamina B₁₂ y los anticuerpos monoclonales 2G12 y PRO-140. Los estudios en animales han demostrado su eficacia en la protección frente al VIH, sin embargo se trata de una eficacia dosis-dependiente. Por ejemplo, en el caso de la vitamina B₁₂, fue necesario administrar 5mg de principio activo vía vaginal a los macacos en experimentación para lograr una protección significativa frente al VIH. Por lo tanto, aunque sean eficaces, el problema de estas moléculas está en que se requieren grandes cantidades de las mismas y en que su producción a gran escala supondría un coste muy elevado [15]. Uno de los campos de experimentación actuales respecto a estos anticuerpos es el que trata de lograr su expresión en plantas transgénicas, lo que supondría una solución al alto coste que supone ahora mismo su producción [16].

Otros agentes capaces de unirse a la gp120 son las lectinas. La Cianovirina-N (CV-N) es una proteína procedente de cianobacterias capaz de inactivar potentemente el VIH-1, el VIH-2 y el virus de la inmunodeficiencia de simios (SIV) mediante la unión irreversible a la gp120. Un estudio con este principio activo ha demostrado su eficacia al bloquear la infección por el VIH-1 en explantes ectocervicales humanos [17]. Para ello, se formularon geles con CV-N al 1% y al 2%, y en todos los casos demostraron su protección frente al virus en macacos, además de no producir ningún efecto adverso o citotóxico [18]. Por lo tanto, la Cianovirina-N podría ser un buen candidato para ensayos en humanos como microbicida tópico anti-VIH. La Grifitsina, una proteína procedente de algas rojas, es otro fármaco con este mismo mecanismo de acción. Los estudios realizados hasta la fecha son prometedores, pues ha demostrado actividad en concentraciones picomolares, así como que no es irritante ni inflamatorio. Además, se ha logrado expresar y purificar a partir de plantas transgénicas, lo que abarataría su coste [19].

Por último, debemos hablar de aquellos microbicidas que incluyen fármacos antirretrovirales inhibidores de la entrada, como el Maraviroc, un fármaco aprobado para el tratamiento de la infección por VIH-1 con tropismo CCR5 en adultos. Se trata concretamente de un antagonista de los receptores CCR5, unas proteínas localizadas en los linfocitos T a las que se une el VIH para entrar a las células. El Maraviroc se une a estos receptores, impidiendo que el VIH infecte las células y se multiplique. Sin

embargo, no es un fármaco activo en todos los pacientes, pues en algunas personas el virus utiliza otro receptor llamado CXCR4 para entrar a las células [20].

Existen distintos estudios que tratan de evaluar la eficacia del Maraviroc como microbicida. Uno de estos ensayos evaluó la eficacia de un gel tópico vaginal de hidroxietilcelulosa con Maraviroc al 2,2% en cepas de ratón humanizado (RAG-hu). Se aplicó el gel a las hembras y una hora después se expusieron al VIH-1 por vía vaginal con el fin de comparar la eficacia protectora del gel frente a placebo, observándose que ningún ratón se infectó con el virus, mientras que todos aquellos tratados con placebo sufrieron la infección [21].

Otro ensayo con este principio activo estudió la eficacia en macacos de un gel de hidroxietilcelulosa con Maraviroc en distintas concentraciones, consiguiéndose la protección completa frente al virus en el gel con 3,3% de Maraviroc. Sin embargo, para conseguir dicha protección es necesaria una concentración elevada en fluido vaginal, algo que solo se consiguió en el intervalo desde los 30 minutos a las 2 horas tras la administración del gel, por lo que la protección depende en gran medida del periodo de tiempo entre la aplicación y el contacto con el virus [22, 23].

A raíz de estos ensayos, han surgido distintos estudios para intentar alargar el tiempo de permanencia del gel. Uno de ellos propone formulaciones de Maraviroc en un gel de silicona. Estos geles fueron ensayados en macacos frente al gel de hidroxietilcelulosa con la misma carga de Maraviroc, consiguiéndose concentraciones mayores y más sostenidas de Maraviroc en fluido vaginal [24].

Otro estudio que trata de solventar este mismo problema intenta conseguir formas farmacéuticas de liberación sostenida de Maraviroc. Dicho estudio realizó ensayos farmacocinéticos con anillos vaginales de elastómero de silicona que incluían el fármaco, y que liberan el principio activo de forma controlada a lo largo de 28 días. El estudio demostró que con esta formulación se podían conseguir concentraciones en fluido vaginal superiores a la CI50 (concentración inhibitoria en el 50% de los casos) [25].

Para concluir, un novedoso estudio formuló el Maraviroc en dispersiones sólidas electrohiladas de polivinilpirrolidona (PVP), ofreciendo estos materiales una forma de dosificación alternativa a los microbicidas actuales [26] ya que estos electrohilados

permiten liberar rápidamente el principio activo en ambientes húmedos, sobre todo si contienen un agente humectante como excipiente.

Inhibidores de enzimas virales

Los inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos/nucleótidos fueron los primeros fármacos que demostraron actividad antirretroviral frente al VIH. Actualmente, se cuenta con varios fármacos de esta familia para el tratamiento de pacientes con VIH y como microbicidas potenciales. Posiblemente el fármaco más estudiado dentro de este grupo es el Tenofovir, que en las infecciones por VIH bloquea la actividad de la transcriptasa inversa, impidiendo que el virus pueda infectar a las células y replicarse. De este modo, se aprobó su administración para el tratamiento de enfermos de al menos dos años de edad infectados por el VIH-1. Actualmente, está siendo investigado su potencial efecto microbicida frente al VIH [27,28].

A pesar de que la actividad antirretroviral del Tenofovir está confirmada y de que se encuentra aprobado su uso por vía oral, para el desarrollo de formas farmacéuticas de administración vaginal con dicho principio activo es necesario aportar estudios de eficacia y seguridad. Las formulaciones microbicidas de Tenofovir ya han demostrado eficacia antiviral en modelos animales y actualmente se encuentran en ensayos clínicos de fase III. Además, un estudio con un gel de Tenofovir de administración vaginal ha demostrado que su administración no tiene una citotoxicidad significativa en mujeres [29]. Finalmente, diversos estudios de seguridad de microbicidas indican que el Tenofovir no es tóxico para la mucosa vaginal en las concentraciones empleadas habitualmente como microbicida [30].

El estudio CAPRISA 004 evaluó la eficacia de un gel de Tenofovir al 1% para prevenir la transmisión del VIH en mujeres sudafricanas. Como resultado, se vio que el gel lograba disminuir en un 39% las infecciones del VIH, llegando incluso al 54% de protección cuando las mujeres tenían alta adherencia al tratamiento [31]. Aunque este estudio demostró la eficacia antirretroviral del gel por vía vaginal, no todos los ensayos realizados en mujeres han dado tan buenos resultados. Aunque estudios más recientes han confirmado la eficacia de dicho gel [32], también nos encontramos con estudios que utilizaron un gel de Tenofovir al 1% en mujeres africanas y no demostraron reducir la probabilidad de contagio del VIH, aunque hay que destacar la reducida adherencia al tratamiento [33].

Por ello, aunque los recientes resultados negativos de algunos ensayos son desconcertantes, la evidencia apoya la eficacia de este antirretroviral en la prevención de la transmisión del VIH-1, siendo la adherencia al tratamiento un factor clave para lograr la protección junto a otros factores que pueden influir en la eficacia, como la adhesión de la formulación a la mucosa que podría modificar la concentración de fármaco y la integridad de la mucosa vaginal [34].

Como formulaciones alternativas, se ha ensayado la eficacia de anillos intravaginales cargados con Tenofovir disoproxil fumarato (TDF) en hembras de macaco frente a placebo. Una vez a la semana, durante 12 semanas, los animales eran expuestos al virus vía vaginal. Como resultado, todos los macacos tratados con placebo sufrieron la infección, mientras que tan solo uno de los seis que recibió el anillo cargado con TDF se infectaba. Por lo que, a la vista de los resultados obtenidos, el anillo con TDF proporciona protección duradera, aun frente a repetidas exposiciones al virus [35].

Por último, también se está investigando sobre la posibilidad de fabricar comprimidos vaginales de liberación prolongada de Tenofovir formulado junto a polímeros mucoadhesivos que tienen gran capacidad de unión a las mucosas durante notables periodos de tiempo. Por esta razón, varios estudios que incorporan estos polímeros a las formulaciones vaginales incrementan su tiempo de permanencia en el lugar de acción. En comparación con otras formulaciones, los comprimidos presentan las ventajas de ser de fácil elaboración, económicos, estables en diferentes condiciones ambientales y fáciles de manejar. Así pues, si estas formulaciones incluyesen el polímero mucoadhesivo apropiado, o una mezcla de polímeros, se podría desarrollar una formulación óptima para la liberación controlada *in situ* del fármaco en la zona donde se produce la transmisión del VIH [36].

Otra familia de fármacos antirretrovirales son los inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (ITINAN). Son inhibidores no competitivos que se unen a un sitio alostérico de la transcriptasa inversa induciendo cambios conformacionales en dicha enzima. Actualmente varios ITINAN se están estudiando como microbicidas, como el MIV-150, el UC78, la Dapivirina y la Rilpivirina.

Se han llevado a cabo varios estudios en macacos con distintas formas farmacéuticas con MIV-150. Así, el estudio de un gel que combinaba MIV-150 y acetato de zinc demostró proteger frente a la infección frente al SHIV durante 24 horas tras su

administración vaginal [37]. Posteriormente, el estudio de un anillo intravaginal, cargado con MIV-150, demostró una protección significativa frente a la infección por el VIH en macacos [38].

La Dapivirina es un fármaco frecuentemente estudiado dentro de este grupo debido a que es uno de los más prometedores para el desarrollo de microbicidas tópicos para la prevención de la transmisión del VIH-1. Así, se ha llevado a cabo un estudio con anillos vaginales de Dapivirina en mujeres que demostró, además de su seguridad y buena tolerancia, una liberación controlada del fármaco durante 28 días [39].

En otro estudio se elaboraron nanopartículas cargadas con Dapivirina, una formulación que ofrece características tecnológicas y biológicas interesantes para su uso en microbicidas vaginales seguros y eficaces [40].

Pero es necesario estudiar la eficacia de los fármacos de esta familia en las mujeres, especialmente en profilaxis de uso continuado, pues su principal desventaja es el rápido desarrollo de resistencias del VIH frente a los fármacos, así, actualmente las estrategias de desarrollo de los microbicidas tratan de diseñar formas farmacéuticas que combinen distintos mecanismos de acción, para así lograr que la protección sea más eficaz. Una combinación muy estudiada es Tenofovir/Dapivirina en películas poliméricas [41] o en anillos intravaginales de poliuretano [42]. Sin embargo, el principal problema que surge se debía a la distinta hidrofilia de los fármacos, lo que obligaba a formularlos por separado provocando que la liberación de los principios activos desde la forma farmacéutica no se realizara de forma simultánea.

Probióticos

Aunque su potencial como microbicidas aún es controvertido, cada vez tienen mayor reconocimiento al intentar promover la colonización de la vagina por microorganismos modificados genéticamente, que serían capaces de expresar moléculas con capacidad de inhibir al VIH. De este modo, se estudian principalmente bacterias de los géneros *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* con el objetivo de lograr que estos microorganismos modificados sean estables genéticamente, se adhieran y persistan en la mucosa vaginal y produzcan el compuesto de interés en concentraciones suficientes y sostenidas para inhibir al virus, sin afectar al balance normal de la microflora vaginal [43, 44].

Así, se ha logrado desarrollar una cepa de *Lactobacillus jensenii* capaz de colonizar la vagina de ratones y de producir altos niveles de Cianovirina-N durante largos periodos de tiempo [45].

Esta misma cepa se estudió posteriormente en macacos con el fin de valorar su influencia en el medio ambiente de la vagina y sobre la mucosa vaginal observándose que, aunque no todos los macacos fueron capaces de retener la cepa, aquellos que sí lo lograron tenían un pH vaginal más bajo y menores niveles de mediadores de la inflamación. Estos datos sugieren que el uso de esta cepa bacteriana no solamente es seguro, sino que además pueden tener un impacto positivo en el medio vaginal [46].

Incluso, otro estudio posterior demostró que los macacos colonizados con esta bacteria presentaban una importante reducción de la transmisión de una cepa simio-quimérica del VIH (SHIV-SF162P3), y aunque la protección no fue total, aquellas hembras infectadas por el virus que estaban colonizadas por *Lactobacillus* genéticamente modificados tenían picos de carga viral seis veces menores que aquellas que no habían sido colonizadas por la bacteria [47].

Aunque aún son necesarios muchos estudios sobre el tema, sin duda esta estrategia representa un paso importante en el desarrollo de un microbicida duradero y de bajo coste para bloquear la transmisión sexual del VIH en mujeres.

CONCLUSIONES

Con lo expuesto en este trabajo, se puede concluir que los microbicidas son una herramienta prometedora para prevenir la transmisión sexual del VIH, pero aún queda un largo camino por recorrer.

En un planteamiento a corto plazo, los microbicidas basados en inhibidores de la transcriptasa inversa son los que se encuentran en una fase más avanzada de desarrollo, así como los que mejores resultados han arrojado hasta la fecha.

A largo plazo se podrían valorar otro tipo de microbicidas que actualmente están lejos de su aplicación clínica, bien porque se encuentran en fases más tempranas de desarrollo (tales como los productos creados por nanotecnología, los electrohilados o los microorganismos modificados genéticamente) o bien porque han surgido barreras que se

deben superar (coste elevado, falta de adherencia o dificultad para mantener concentraciones sostenidas).

BIBLIOGRAFÍA

1. Sexually transmitted infections. Disponible en: http://www.who.int/topics/sexually_transmitted_infection (consulta: marzo 2015).
2. VIH/SIDA. Disponible en: http://www.who.int/topics/hiv_aids/es/ (consulta: febrero 2015).
3. Documento de consenso de Gesida/Plan Nacional sobre el SIDA respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. Plan de expertos de Gesida y Plan Nacional sobre el SIDA. Enero 2012. Disponible en: <http://www.gesida-seimc.org/.../2012/gesidadcyr2012-Documentoconsenso-TAR-adulto-verimprimir.pdf> (consulta: marzo 2015).
4. La prevalencia mundial del VIH se ha estabilizado. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2007/pr61/es/> (consulta: febrero 2015).
5. El SIDA en cifras. ONUSIDA 2013. Disponible en: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/JC2571_AIDS_by_the_numbers_es_1.pdf (consulta: febrero 2015).
6. Presentación de informes sobre los avances en la respuesta mundial al SIDA 2013: Desarrollo de indicadores básicos para el seguimiento de la Declaración política de las Naciones Unidas sobre el VIH y el SIDA de 2011. ONUSIDA / JC2453S (versión española, febrero de 2013). Disponible en: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/GARPR_2013_guidelines_es_0.pdf (consulta: febrero 2015).
7. The gap report. UNAIDS. Disponible en: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_Gap_report_en.pdf (consulta: febrero 2015).
8. Wilkinson D, Tholandi M, Ramjee G, Rutherford GW. Nonoxynol-9 spermicide for prevention of vaginally acquired HIV and other sexually transmitted

- infections: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials including more than 5000 women. *Lancet Infect Dis*. 2002; 2(10): 613-7.
9. Feldblum PJ, Adeiga A, Bakare R, Wevill S, Lendvay A, Obadaki F et al. SAVVY vaginal gel (C31G) for prevention of HIV infection: a randomized controlled trial in Nigeria. *PLoS One* 2008; 3(1): e1474.
 10. Skoler-Karpooff S, Ramjee G, Ahmed K, Altini L, Plagianos MG, Friedland B et al. Efficacy of Carraguard for prevention of HIV infection in women in South Africa: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 372(9654): 1977-87.
 11. McCormack S, Ramjee G, Kamali A, Rees H, Crook AM, Gafos M et al. PRO2000 vaginal gel for prevention of HIV-1 infection (Microbicides Development Programme 301): a phase 3, randomised, double-blind, parallel-group trial. *Lancet* 2010; 376(9749): 1329-37.
 12. Abdool Karim SS, Richardson BA, Ramjee G, Hoffman IF, Chirenje ZM, Taha T et al. Safety and effectiveness of BufferGel and 0.5% PRO2000 gel for the prevention of HIV infection in women. *AIDS* 2011; 25(7): 957-66.
 13. Rupp R, Rosenthal SL, Stanberry LR. VivaGel (SPL7013 Gel): a candidate dendrimer--microbicide for the prevention of HIV and HSV infection. *Int J Nanomedicine* 2007; 2(4): 561-6.
 14. Abdool Karim SS, Richardson BA, Ramjee G, Hoffman IF, Chirenje ZM, Taha T et al. Safety and effectiveness of BufferGel and 0.5% PRO2000 gel for the prevention of HIV infection in women. *AIDS* 2011; 25(7): 957-66.
 15. Veazey RS, Shattock RJ, Pope M, Kirijan JC, Jones J, Hu Q et al. Prevention of virus transmission to macaque monkeys by a vaginally applied monoclonal antibody to HIV-1 gp120. *Nat Med*. 2003; 9(3): 343-6.
 16. Sexton A, Harman S, Shattock RJ, Ma JK. Design, expression, and characterization of a multivalent, combination HIV microbicide. *FASEB J*. 2009; 23(10): 3590-600.
 17. Tsai CC, Emau P, Jiang Y, Agy MB, Shattock RJ, Schmidt A et al. Cyanovirin-N inhibits AIDS virus infections in vaginal transmission models. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2004; 20(1): 11-8.
 18. Tsai CC, Emau P, Jiang Y, Tian B, Morton WR, Gustafson KR et al. Cyanovirin-N gel as a topical microbicide prevents rectal transmission of SHIV89.6P in macaques. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2003; 19(7): 535-41.

19. O'Keefe BR, Vojdani F, Buffa V, Shattock RJ, Montefiori DC, Bakke J et al. Scaleable manufacture of HIV-1 entry inhibitor griffithsin and validation of its safety and efficacy as a topical microbicide component. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106(15): 6099-104.
20. Celsentri®. Ficha Técnica del medicamento. European Medicines Agency (EMA). Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000811/WC500022190.pdf (consulta: marzo 2015).
21. Neff CP, Kurisu T, Ndolo T, Fox K, Akkina R. A topical microbicide gel formulation of CCR5 antagonist maraviroc prevents HIV-1 vaginal transmission in humanized RAG-hu mice. *PLoS One* 2011; 6(6): e20209.
22. Malcolm RK, Forbes CJ, Geer L, Veazey RS, Goldman L, Klasse PJ et al. Pharmacokinetics and efficacy of a vaginally administered maraviroc gel in rhesus macaques. *J Antimicrob Chemother*. 2013; 68(3): 678-83.
23. Veazey RS, Ketas TJ, Dufour J, Moroney-Rasmussen T, Green LC, Klasse PJ et al. Protection of rhesus macaques from vaginal infection by vaginally delivered maraviroc, an inhibitor of HIV-1 entry via the CCR5 co-receptor. *J Infect Dis*. 2010; 202(5):739-44.
24. Forbes CJ, Lowry D, Geer L, Veazey RS, Shattock RJ, Klasse PJ et al. Non-aqueous silicone elastomer gels as a vaginal microbicide delivery system for the HIV-1 entry inhibitor maraviroc. *J Control Release* 2011; 156(2): 161-9.
25. Malcolm RK, Veazey RS, Geer L, Lowry D, Fetherston SM, Murphy DJ et al. Sustained release of the CCR5 inhibitors CMPD167 and maraviroc from vaginal rings in rhesus macaques. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56(5): 2251-8.
26. Ball C, Woodrow KA. Electrospun solid dispersions of Maraviroc for rapid intravaginal preexposure prophylaxis of HIV. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014; 58(8): 4855-65.
27. McConville C, Friend DR, Clark MR, Malcolm K. Preformulation and development of a once-daily sustained-release tenofovir vaginal tablet containing a single excipient. *J Pharm Sci*. 2013; 102(6): 1859-68.
28. Viread®. Ficha Técnica del medicamento. European Medicines Agency (EMA). Disponible en: <http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicin>

es/000419/human_med_001144.jsp&mid=WC0b01ac058001d124 (consulta: marzo 2015).

29. Mayer KH, Maslankowski LA, Gai F, El-Sadr WM, Justman J, Kwiecien A et al. Safety and tolerability of tenofovir vaginal gel in abstinent and sexually active HIV-infected and uninfected women. *AIDS*. 2006; 20(4):543-51.
30. Johnson TJ, Gupta KM, Fabian J, Albright TH, Kiser PF. Segmented polyurethane intravaginal rings for the sustained combined delivery of antiretroviral agents dapivirine and tenofovir. *Eur J Pharm Sci*. 2010; 39(4): 203-12.
31. Abdool Karim Q, Abdool Karim SS, Frohlich JA, Grobler AC, Baxter C, Mansoor LE et al. Effectiveness and safety of tenofovir gel, an antiretroviral microbicide, for the prevention of HIV infection in women. *Science* 2010; 329(5996): 1168-74.
32. Celum C, Baeten JM. Tenofovir-based pre-exposure prophylaxis for HIV prevention: evolving evidence. *Curr Opin Infect Dis*. 2012; 25(1): 51-7.
33. Marrazzo JM, Ramjee G, Richardson BA, Gomez K, Mgodhi N, Nair G et al. Tenofovir-based preexposure prophylaxis for HIV infection among African women. *N Engl J Med*. 2015; 372(6): 509-18.
34. Van der Straten A, Van Damme L, Haberer JE, Bangsberg DR. Unraveling the divergent results of pre-exposure prophylaxis trials for HIV prevention. *AIDS* 2012; 26(7): F13-9.
35. Smith JM, Srinivasan P, Teller RS, Lo Y, Dinh CT, Kiser PF et al. Tenofovir disoproxil fumarate intravaginal ring protects high-dose depot medroxyprogesterone acetate-treated macaques from multiple SHIV exposures. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2015; 68(1): 1-5.
36. McConville C, Friend DR, Clark MR, Malcolm K. Preformulation and development of a once-daily sustained-release tenofovir vaginal tablet containing a single excipient. *J Pharm Sci*. 2013; 102(6): 1859-68.
37. Kenney J, Aravantinou M, Singer R, Hsu M, Rodriguez A, Kizima L et al. An antiretroviral/zinc combination gel provides 24 hours of complete protection against vaginal SHIV infection in macaques. *PLoS One* 2011; 6(1): e15835.
38. Singer R, Mawson P, Derby N, Rodriguez A, Kizima L, Menon R et al. An intravaginal ring that releases the NNRTI MIV-150 reduces SHIV transmission in macaques. *Sci Transl Med*. 2012; 4(150): 150ra123.

39. Nel A, Haazen W, Nuttall J, Romano J, Rosenberg Z, van Niekerk N. A safety and pharmacokinetic trial assessing delivery of dapivirine from a vaginal ring in healthy women. *AIDS* 2014; 28(10): 1479-87.
40. Das Neves J, Sarmiento B. Precise engineering of dapivirine-loaded nanoparticles for the development of anti-HIV vaginal microbicides. *Acta Biomater.* 2015; 18: 77-87.
41. Akil A, Devlin B, Cost M, Rohan LC. Increased Dapivirine tissue accumulation through vaginal film codelivery of dapivirine and Tenofovir. *Mol Pharm.* 2014; 11(5): 1533-41.
42. Johnson TJ, Gupta KM, Fabian J, Albright TH, Kiser PF. Segmented polyurethane intravaginal rings for the sustained combined delivery of antiretroviral agents dapivirine and tenofovir. *Eur J Pharm Sci.* 2010; 39(4): 203-12.
43. Rademacher T, Sack M, Arcalis E, Stadlmann J, Balzer S, Altmann F et al. Recombinant antibody 2G12 produced in maize endosperm efficiently neutralizes HIV-1 and contains predominantly single-GlcNAc N-glycans. *Plant Biotechnol J.* 2008; 6(2): 189-201.
44. Fernández Romero JA, Gilb PI, Ré V, Robbiani M, Paglini G. Microbicidas para la prevención de infecciones de transmisión sexual: estado actual y estrategias para la evaluación preclínica de nuevos candidatos. *Revista Argentina de Microbiología* 2014; 46(3):256-68.
45. Liu X, Lagenaur LA, Simpson DA, Essenmacher KP, Frazier-Parker CL, Liu Y et al. Engineered vaginal *lactobacillus* strain for mucosal delivery of the human immunodeficiency virus inhibitor cyanovirin-N. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50(10): 3250-9.
46. Brichacek B, Lagenaur LA, Lee PP, Venzon D, Hamer DH. *In vivo* evaluation of safety and toxicity of a *Lactobacillus jensenii* producing modified cyanovirin-N in a rhesus macaque vaginal challenge model. *PLoS One* 2013; 8(11): e78817.
47. Lagenaur LA, Sanders-Beer BE, Brichacek B, Pal R, Liu X, Liu Y et al. Prevention of vaginal SHIV transmission in macaques by a live recombinant *Lactobacillus*. *Mucosal Immunol.* 2011; 4(6): 648-57.